Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn.
Direktor: Prof. Dr. Selter.

„Über das antagonistische Verhalten verschiedenartiger Colistämme gegenüber Staphylokokken und Typhusbazillen."

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität
zu Bonn.

Vorgelegt am 28. Dezember 1937
von
Karl Nitsche
aus Bochum i. W.

Bonn 1938
Anton Brand, Bonn.

Gedruckt
mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Selter
Korreferent: Prof. Dr. Martini.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Über das antagonistische Verhalten verschiedenartiger Colistämme gegenüber Staphylokokken und Typhusbazillen.

Einen interessanten und vielleicht praktisch bedeutenden Vorgang in der Bakteriologie stellt das gegenseitige Verhalten von Bakterien in Mischkulturen dar, zumal es sich bei den von Bakterien veranlaßten Krankheiten sehr oft um Mischinfektionen handelt.

Auf der einen Seite finden wir den Synergismus der verschiedenartigsten Erreger, bei dem beispielsweise durch eine Symbiose zwischen aeroben und anaeroben Bakterienarten für die letzteren erst durch den Sauerstoffverbrauch der Aerobier die erforderlichen Lebensbedingungen geschaffen werden.

Viel häufiger aber kommt in der Natur der hemmende oder abtötende Einfluß einer Bakterienart auf eine andere oder eines Bakterientypus (Pneumokokkus I — Pneumokokkus II) auf einen zweiten der gleichen Art vor.

Dieses gegensätzliche Verhalten von Bakterien zueinander wird als Antagonismus bezeichnet, über dessen Ursachen nur wenig Sicheres bekannt ist. Gehen doch die Ansichten der meisten Untersuchungen über das wirksame Prinzip dieser Erscheinung weit auseinander.

Die Tatsache des vorhandenen Antagonismus erkannte man schon Ende des vergangenen Jahrhunderts. Emmerich und di Mattei beobachteten im Jahre 1877 eine Hemmung einer Milzbrandinfektion durch Erysipelstreptokokken. Wenig später (1899) stellten Emmerich und Löw die unterdrükkende Wirkung der lebenden Bazillen und des Filtrates von Pyocyaneuskulturen auf bac. anthracis fest. Das wirksame Agens dieses Vorganges glaubten sie in einer Fermentwirkung zu sehen.

Bienstock konnte 1901 ebenfalls Bakterienantagonismus nachweisen. Und zwar erbrachte er durch Versuche am Menschen und Tier den Beweis, daß durch bac. coli und bac. lactis aerogenes die Entwicklung anaerober Fäulniserreger (Baz. putrificus) gehemmt wurde.

In der Folgezeit konnte von zahlreichen Forschern experimentell bei den verschiedenartigsten Bakterienarten Antagonismus nachgewiesen werden.

z. B.	Colibazillus	Thyphusbazillus
	Colibazillus	Streptokokkus
	Colibazillus	Staphylokokkus
	Colibazillus	Bac. anthracis
	Colibazillus	Shiga/Ruhrbazillus
	Bac. pyocyaneus . .	Bac. anthracis
	Bac. pyocyaneus . .	Diphtheriebazillus
	Baz. mesentericus . .	Diphtheriebazillus

Aber nicht nur untereinander verschiedene Bakterienarten wirken antagonistisch aufeinander ein, sondern auch verschiedene Typen der gleichen Art, wie z. B. Pneumokokkus I gegen Pneumokokkus II.

Man muß prinzipiell zwei verschiedene Arten von Antagonismus von einander unterscheiden. Einmal werden von einer Reihe von Bakterien Stoffwechselprodukte erzeugt, die auf andere Bakterien einen hemmenden oder abtötendem Einfluß ausüben. Dieser Antagonismus wird auch in Kulturfiltraten der betreffenden Bakterienart wirksam, ist also nicht an das Vorhandensein des lebenden Bakterienprotoplasmas gebunden. Typische Beispiele von Stoffwechselantagonisten sind der Baz. pyocyaneus und der Baz. mesentericus, wobei bei letzterem die Wirkung speziell gegen Diphtheriebazillen gerichtet ist, wie Weiland an Versuchen zeigen konnte. Bei Colifiltraten ist eine Wirkung stark umstritten; zuerst wollen Schilling und Califano eine solche gegenüber Dysenteriebazillen beobachtet haben. Eine zweite Form des Antagonismus beobachtete man, dessen

Wirkung an die Anwesenheit des lebenden Bazillus gebunden ist, wahrscheinlich von der Wachstum- und Reifungsperiode abhängig ist. Eine befriedigende Erklärung für dieses Phänomen, das in der Natur sich recht häufig nachweisen läßt, ist noch nicht gefunden worden. Es entsteht nun die Frage, ob es sich hierbei um einen spezifischen Vorgang handelt oder ob lediglich die Veränderung bestimmter Umweltfaktoren dafür verantwortlich zu machen ist.

So wurden von Gundel, Himstedt und Gundel und Habs folgende Ursachen zur Diskussion gestellt:

1. Beweglichkeit der stärkeren Art.
2. Sauerstoffbedarf des schwächeren Keims.
3. Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration des Substrates durch die verdrängenden Keime.
4. Nährbodenausnutzung durch die rascher wachsende Art.
5. Bildung von Stoffwechselprodukten, die antagonistisch wirken.

ad 1.

Beweglichkeit glaubten Gundel und Habs ausschließen zu können, weil auch durch das unbewegliche bact. lactis aerogenes eine hemmende Wirkung gegen Milzbrandbazillen zu erzielen war.

ad 2.

Ebenfalls kann der Sauerstoffbedarf nicht den Antagonismus verursachen, da Staphylokokken und Choleravibrionen auf Milzbrand keine Wirkung im Wachstum ausüben.

ad 3.

Gundel und Habs konnten im Reagenzglas nachweisen, daß eine Veränderung des P_H im Nährboden keinen Antagonismus hervorrufen kann.

ad 4.

Auch eine Erschöpfung des Nährbodens konnte als Ursache einer Hemmung mit Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. In 24 Stunden alte oder ältere durch Erhitzen abgetötete Coli-Bouillonkulturen impften die Untersucher Milzbrand-

bazillen. Sie stellten fest, daß letztere sich hier fast ebenso rasch vermehrten wie in den Kontrollröhrchen.

ad 5.

In den Stoffwechselprodukten glauben Gundel und Habs ebenfalls nicht das antagonistische Agens gefunden zu haben. Sicher sind es keine thermostabilen oder Filtrierbaren Stoffe, da weder durch Erhitzen noch filtrieren ein Produkt erhalten wurde, das gegen die in der Mischkultur unterliegende Art wirksam war. Es könnten nur wärmelabile oder nichtfiltrierbare Fermente sein; aber auch diese zeigten in keinem Falle eine Hemmung.

Für eine antagonistische Wirkung von Stoffwechselprodukten könnte allerdings die Tatsache sprechen, daß ein Antagonismus ausblieb, sobald der Mischkultur adsorbierende Substanzen beigefügt wurden, wie Kieselgur oder Kohlepulver.

Giovanardi glaubt, daß der Antagonismus nicht auf eine besondere Bildung von Stoffen seitens des antagonistisch stärkeren Bakteriums beruht; als die wirksamen Faktoren — und damit steht er im Gegensatz zu Gundel, Himstedt und Habs — spricht er an die Sauerstoffentziehung, die Erschöpfung des Nährstoffes und die Veränderung des P_H, die der verdrängende Keim im Nährboden verursacht. Ein Antagonismus zwischen bact. coli — bact. anthracis ist bei gleichzeitiger Überimpfung in flüssigen Nährböden (Bouillonkultur oder Petrischalen) bei gutem Luftzutritt nur wenig nachweisbar. Auf festen Nährböden (Gelatine, Agar) ist ein Antagonismus nicht bemerkbar, da dem Milzbrandbazillus der zu seinem Aufbau erforderliche Sauerstoff zugänglich ist. Bringt man den P_H des Nährbodens wieder auf 7,2 oder fügt man den Filtraten erschöpfter Bouillonkulturen Traubenzucker zu, so kann man ein erneutes üppiges Wachstum der Keime erzielen.

Die gegensätzlichen Anschauungen zeigen uns, daß es schwierig ist, die wirkliche Ursache des Antagonismus kennen zu lernen. Ein Teil der Forschung, darunter Neufeld und auch Gundel ist zur Annahme gelangt, daß es sich doch um

einen spezifischen Vorgang handelt, den Neufeld als direkten Antagonismus bezeichnet. Dieser direkte Antagonismus sei vielleicht in Anlehnung an die Bail, sche Populationstheorie erklärbar, wobei Gundel von einer „biologischen Aktivität oder Konkurrenzfähigkeit" des wirksamen Keimes spricht.

Während Gundel und Kliewe die Ansicht vertreten, daß die antagonistische Wirkung nur an lebende Keime gebunden ist und weder auf einer Fermentwirkung noch auf Stoffwechselprodukten beruht, sieht Sanfelice das wirksame Moment in einem vom lebenden Bazillus ausgeschiedenen Enzym, das die Filter nicht passieren kann.

Neuerliche Versuche von Etinger-Tulczynska konnten erhärten, daß der stärkste antagonistische Wirkungsgrad zwischen nahe verwandten Bakterienarten und zwischen verschiedenen Typen der gleichen Art vorhanden ist. Aus dieser Beobachtung wurde der Schluß gezogen, daß durch Stoffwechselprodukte eine Hemmung oder Abtötung der einen Art durch die andere (Coli-Typhus) oder des einen Typhus durch einen zweiten (Pneumokokkus I — Pneumokokkus II) höchst unwahrscheinlich ist.

Gegen eine Enzymwirkung sprach, daß sich die Pneumokokken des Typhus I im Filtrat der flüssigen Kultur von Pneumokokken des Typus II (und auch umgekehrt) ungestört vermehrten; wogegen eine ausgesprochene Hemmung in der lebenden flüssigen Kultur stattfand.

Da die einzelnen Pneumokokkentypen sich annähernd gleich schnell vermehrten, scheint also eine Hemmung der langsamer wachsenden Art durch die schneller wachsenden Keime höchst fragwürdig. Experimentell konnte dann Etinger-Tulczynska zeigen, daß bei einer 100 — bis 10000 — fach größeren Einsaatmenge eines Typus dieser konstant den andern völlig überwucherte. In dieser Tatsache sieht Etinger-Tulczynska die Erklärung des Antagonismus. Sie glaubt es mit einem „Grundphänomen" zu tun zu haben und nimmt an, daß nämlich immer dann eine Hemmung oder Abtötung

zu erzielen ist, wenn eine Art oder eine Typus in gewisser zahlenmäßiger Überlegenheit eingesetzt wird.

Nach Ansicht von Neufeld und Kuhn — analog den Ergebnissen von Etinger-Tulczynska — tritt bei gleich großer Einsatzzahl von aufeinander einzuwirkenden Keimen nur dann eine Hemmung ein, wenn eine von beiden Arten ein wirkungsvoller Antagonist ist.

Während vielen antagonistischen Versuchen in erster Linie wissenschaftliches Interesse zukommt, um das Phänomen als solches zu klären, haben die Coli-Versuche auch vom medizinisch-bakteriologischen Standpunkt eine erhöhte Bedeutung. Hierbei steht im Vordergrund wohl die Frage, inwieweit der Coli-Antagonismus auf die Zusammensetzung der Darmflora, insbesondere aber auf die Anwesenheit nicht standortgebundener Bakterien im Darm, vor allem von Krankheitserregern Einfluß hat. Mit diesen Fragen hat sich vor allem Nißle auseinandergesetzt. Er vertritt die Ansicht, daß die natürliche Resistenz gegen die Darmerkrankungen bakterieller Natur wesentlich vom Besitz einer antagonistisch hochwirksamen Colirasse abhängig ist. Sie hemmt oder unterdrückt völlig das Wachstum zufällig in den Darm gelangter Keime. Die Frage des Antagonismus ist deshalb nicht bloß für die Diagnostik wichtig, sondern auch für Prophylaxe und Therapie, wie Nißle durch seine Mutaflorbehandlung bewiesen hat. Die Schwierigkeit der von Nißle gerade in Bezug auf die Diagnostik und Therapie aufgeworfenen Probleme besteht nun darin, wie man antagonistisch hochwertige Colibazillen von schlechtwirksamen unterscheiden kann. Das Verfahren, in jedem Einzelfall der Praxis die antagonistische Wirksamkeit der Colibazillen im Versuch zu prüfen, wäre sicherlich zu zeitraubend, zumal man damit rechnen muß, daß in einem Stuhl verschiedene Coliarten angetroffen werden können, die dann alle einzeln zu prüfen wären. Aufgrund eines verschiedenartigen Wachstums auf der Endoplatte unterscheidet Nißle 4 Typen, die alle Laktose spalten.

Das Aussehen der Kolonien ist wie folgt beschrieben:

Typ I deutlich gerötete, durchscheinende, normale Kolonien.
Typ II schwächer gerötete, weniger durchsichtige Kolonien.
Typ III normal gerötete, ein wenig durchscheinende Kolonien mit deutlich trüben Formen.
Typ IV dunkelrote, große, undurchsichtige Kolonien.

Nach Nißle zeigen die Colibazillen des Typus I die beste antagonistische Fähigkeit, denen die des Typus II relativ nahe kommen. Die antagonistische Wertigkeit der Typen III und IV folgt im weiten Abstand.

Hashimoto, der die Abhängigkeit der antagonistischen Wirkung vom kulturellen Verhalten zwischen Coli-Bazillen und Typhuserregern prüfte, teilte die Colistämme je nach ihrer Wirksamkeit in verschiedene Gruppen ein. Nach ihm waren am schwächsten wirksam die Colibazillen, die auf Schrägagar sehr dünn und durchsichtig wuchsen, die Milch nur schwach zur Gerinnung brachten, Lakmusmolke kaum röteten, auf Endo gut wuchsen, aber den Nährboden fast nicht röteten. Die beste antagonistische Gruppe (Kultur) wuchs auf Endoplatten in intensiv roten Kolonien, brachte Milch stark zum Gerinnen und rötete deutlich Lakmusmolke. Alle Stämme dieser Gruppe waren bewegungslos. Die in ihrer Wirksamkeit zwischen diesen beiden Gruppen liegenden Colistämme zeigten wechselndes kulturelles Verhalten.

Bei den Versuchen, die im folgenden beschrieben sind, kam es in erster Linie darauf an, zu untersuchen, ob sich vielleicht eine Abhängigkeit des Antagonismus vom kulturellen Verhalten der einzelnen Bakterienarten nachweisen läßt. Nißle berücksichtigt bei seiner Typeneinteilung nur die auf Endo rotwachsenden Colibazillen. Es ist aber bekannt, daß gerade bei Störungen in der Zusammensetzung der normalen Darmflora atypische Colibazillen auftreten, die auf Endo farblos wachsen und die vielfach als minderwertig angesehen werden. So wurden die verschiedenartigsten Colistämme geprüft, deren kulturelle Eigenschaften festgelegt waren; als Testbakterien

wurden Staphylokokken und Typhusbazillen benutzt, gegen die nach Angaben der Literatur ein Coliantagonismus vorhanden sein soll. Die Untersuchungen erstreckten sich zunächst einmal auf eine Reihe von eigenen Colistämmen, deren kulturelles Verhalten aus nachfolgenden Tabellen zu ersehen ist. Beachtenswert ist noch, daß kein Stamm in allen seinen Eigenschaften mit einem andern Stamm völlig übereinstimmte. Die eigenen Colistämme waren von Staberow im Rahmen einer Dissertationsarbeit kulturell untersucht worden, der auch die Tabellen I und II entnommen sind.

Außerdem gelangten vier uns von Herrn Professor Dr. Nißle liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellten Colistämme zur Untersuchung, die den vorher erwähnten vier Nißle-Typen entsprachen.

Tabelle 1

Kulturelles Verhalten der zur Anwendung gelangten Colistämme.

Bleiacetat	+	—	+	+	+	—	+	+
Milchkoag. nach Tagen	2	3	2	1	3	4	2	1
Endo	w	w	r	r	w	w	r	r
Blut	—	—	H	—	—	H	—	—
Indol	+	+	+	+	+	+	—	+
Nitratreduktion	+	+	+	+	+	+	+	+
Clark-Lubs Methylrotprobe	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer'sche Reaktion	—	—	—	—	—	—	—	—
Alkali	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatine	—	—	—	—	—	—	—	—
Ammoniumcitrat	—	—	—	—	—	—	—	—
Kapsel	—	—	—	—	—	—	—	—
Beweglichkeit	—	—	+	+	—	—	—	—
Gram	—	—	—	—	—	—	—	—
Coli-Stamm	1	6	9	19	28	30	41	44

W = weißes Wachstum, r = rotes Wachstum, H = Hämolyse.

Tabelle 2

Verhalten der Colistämme den einzelnen Zuckerarten gegenüber.

Adonit	—	—	—	—	+	—	—	—
Dulcit	—	+	—	+	—	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	—	+
Raffinose	+	—	—	+	—	—	—	—
Dextrin	+	+	—	+	+	+	+	+
Sorbit	+	—	+	—	+	+	+	+
Glyzerin	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	—	+	+
Rhammose	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+
Laevulose	++	++	++	++	++	++	++	++
Galaktose	++	++	++	++	++	++	++	++
Maltose	++	++	++	++	++	++	++	++
Saccharose	——	——	——	++	++	——	——	——
Laktose	++	++	++	++	++	++	++	++
Glukose	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli-Stamm	1	6	9	19	28	30	41	44

+ = Säurebildg., ++ = Säure- u. Gasbildg., Beobachtg.: 21 Tage.

Die Versuchsanordnung war wie folgt: Je eine Öse einer gleichmäßig gewachsenen, flüssigen 24-stündigen Staphylokokken- und Colikultur wurde in 1 ccm Fleischwasserbouillon gemischt und 6 bzw. 24 Stunden einer Temperatur von 37° C. ausgesetzt. Dann wurde zur Aussaat auf Platten für die 6stündige Mischkultur eine Verdünnung von 10^{-2}, für die 24 Stunden alte eine Verdünnung von 10^{-4} mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Diese Verdünnungsgrade hatten sich in Vorversuchen als zweckmäßig erwiesen. Nach guter Durchschüttelung wurde nur eine Öse Bakterienmaterial auf eine Agarplatte geimpft, ausgespatelt und 24 Stunden bei 37° C. gebrütet. Die Kolonienzahlen der beiden Bakterienarten wur-

den ermittelt, ihre Verhältniszahl bestimmt und auf 100 Coli-kolonien berechnet. Aufgrund von Kontrollversuchen war vorher beobachtet worden, daß die Wachstumstendenz der beiden Bakterienarten nahezu gleich war. Da bei der Untersuchung des Coli-Staphylokokken-Antagonismus hämolysierende Staphylokokken benutzt wurden, dienten zur besseren Differenzierung beim Auszählen der Kolonien Blutagarplatten. Selbst bei starkem Bewuchs der Platten konnten mit bloßem Auge gut die beiden Kolonienarten von einander getrennt werden. Die Wirksamkeit der Colibazillen gegen die drei zur Anwendung gelangten Staphylokokhenstämme ist aus der Tabelle III zu ersehen. Die einzelnen Zahlen geben den antagonistischen Index wieder und zwar besagen sie, wieviel Staphylokokkenkolonien auf 100 Colikolonien entfallen.

Tabelle 3

Antagonistischer Index von Colistämmen gegenüber Staphylokokken bei 6- und 24stündiger Einwirkungszeit.

Coli-stamm	Staphylokokkus 1		Staphylokokkus 2		Staphylokokkus 3	
	6 Std.	24 Std.	6 Std.	24 Std.	6 Std.	24 Std.
1	3,4	13	7,9	4,6	12	18
6	114	75	165	43	185	74
8	2,7	4,5	21,6	11,3	28,5	7
9	0,95	14	9,7	13,5	11	26
19	6,6	25	13,4	7,5	50	5
28	9,1	36	12,6	14,5	29	14
30	2,9	0,4	7,9	2,3	25	1,5
41	6,3	6,6	9,7	6,2	62	26
44	0.6	1,5	12,6	89	2	15
Nißle-Typen						
I			20	13	105	12
II			44	19	36	4
III			12	18	48	45
IV			11	26	34	55

Wie die Tabelle III zeigt, ist in jedem Falle eine Unterdrückung wahrnehmbar. Allerdings lassen sich graduell erheb-

liche Unterschiede feststellen. Bester Antagonist war der Stamm 30. Eine schlechte antagonistische Wirk amkeit entfaltete der Stamm 6; während alle anderen Stämme nach 6stündiger Einwirkung einen antagonistischen Index von bedeutend weniger als 100 aufweisen, liegen seine Werte bei den drei verschiedenen Staphylokokkenstämmen zwischen 114 bis 185. Bei 24 stündiger Einwirkungszeit liegt der Index zwar auch deutlich unter 100, ohne jedoch an die Zahlen der andern Stämme heranreichen zu können. Aus den Zahlenwerten ist auch zu entnehmen, daß die drei verschiedenen Staphylokokkenstämme den einzelnen Colistämmen einen ungleichmässigen Widerstand entgegensetzen; während der Stamm 41 gegenüber den Staphylokokkenstämmen 1 und 2 bei 6- und auch bei 24stündiger Einwirkung einen guten Antagonismus zeigt, ist dieser dem Staphylokokkenstamm 3 gegenüber bedeutend schlechter ausgeprägt. Das gleiche Bild finden wir bei den Stämmen 9 und 1. Bei den 4 Nissle-Typen konnten keine wesentlichen Unterschiede in ihrem antagonistischen Verhalten gegenüber Staphylokokken festgestellt werden. Die Tabelle ergibt, daß der Staphylokokkenstamm 3 den Colistämmen gegenüber viel resistenter ist als die beiden andern Staphylokokkenstämme.

Die Versuche haben zunächst einmal das eine gezeigt, daß die Resistenz der geprüften Staphylokokken verschieden ist und einen wichtigen Faktor bei den antagonistischen Vorgängen darstellt. Auf die Unterschiede der einzelnen Colistämmen in ihrem Verhalten wird im Zusammenhang noch eingegangen werden nach Besprechung der Versuche mit Typhusbazillen.

Unsere Methode der Prüfung des Antagonismus von Coli gegen Typhusstämme war die gleiche, wie bei der Untersuchung des Colistaphylokokken-Antagonismus. Lediglich wurde vor der Ausspatelung der 24stündigen Mischkulturen zur besseren Differenzierung eine Verdünnung von 10^{-5} an Stelle von 10^{-4} vorgenommen. Zur Ausspatelung wurden Chinablauplatten benutzt. Und zwar für die auf Endo rot wachsenden Coli-

stämme Chinablaulaktoseplatten und für die auf Endo weiß wachsenden Coliarten Chinablauarabinoseplatten. Auf die Brauchbarkeit der Chinablaulaktoseplatten zur Differenzierung von Coli- und Typhuskeimen haben schon Koch und Krämer hingewiesen; zur Unterscheidung der Typhusbazillen und der auf Endo weiß wachsenden Colibazillen konnte diese Platte nicht herangezogen werden, daher wurde für diese Colistämme die Chinablauarabinoseplatte verwandt, die sich als sehr brauchbar erwiesen hat, da Typhusbazillen die Arabinose nicht spalten. Die Chinablauplatten hatten folgende Zusammensetzung:

100 ccm eines $2\,^1/_2\,\%$igen gewöhnlichen Agars
(hergestellt aus Fleischextrakt)
2 ccm einer $1\,\%$igen Chinablau-Lösung
1 ccm Laktose bzw. Arabinose.

Die dünn ausgegossenen Platten sind fast durchsichtig und haben einen schwach blauen Schimmer. Die auf Endo rot wachsenden Colibazillen haben auf der Chinablaulaktoseplatte ein tiefblaues Aussehen, während die auf Endo weiß wachsenden Colistämme auf Chinablauarabinoseplatten eine ähnliche Farbe zeigen. In beiden Fällen heben sich die blauen Colikolonien deutlich von den weiß bis grauweiß aussehenden Typhuskolonien ab. Die antagonistische Wirkung der Colibazillen gegenüber den drei zur Anwendung gelangten Typhusstämmen ist aus der Tabelle IV feststellen.

Tabelle 4

Antagonistischer Index von Colistämmen gegenüber Typhusbazillen bei 6- uud 24stündiger Einwirkungszeit.

Coli-stamm	Typhus A		Typhus B		Typhus C	
	6 Std.	24 Std.	6 Std.	24 Std.	6 Std.	54 Std.
1	14,2	9,6	18,0	6,8	28,2	11,9
6	49,2	3,4	35,1	14,5	41,3	9,2
8	12,4	1,3	—	—	—	—
9	13,1	—	9,8	1,8	16,2	4,1
19	18,7	5,3	11,1	3,9	12,7	5,4
28	6,9	1,2	9,8	3,6	15,2	7,1
30	31,4	7,7	20,3	6,5	26,1	8,2
41	21,3	14,3	16,1	2,7	28,9	6,2
44	26,3	7,1	12,8	0,8	19,1	0,4
Nißle-Typen						
I	11,4	0				
II	36,1	8,6				
III	34,7	2,1				
IV	28,3	5,6				

Bester Antagonist ist der Colistamm 44; bei 24stündiger Einwirkungszeit kommen auf 100 Colikolonien 0,4 Typhuskolonien vom Typhusstamm C, 0,8 Kolonien vom Typhusstamm B und 7,1 Kolonien vom Typhusstamm A. Auch die 6stündigen Werte lassen starke Hemmung erkennen. Schlecht antagonistisch wirkt der Colistamm 1; sein antagonistischer Index liegt nach 24 Stunden zwischen 6,8 und 11,9. Ebenso wie beim Coli-Staphylokokken-Antagonismus zeigt der Stamm 6 im Vergleich zu den übrigen Colistämmen eine schwächere Hemmung. Sein antagonistischer Index liegt nach 24 Stunden zwischen 3,4 und 14,5. Auffallend schlecht sind die Werte bei 6 stündiger Einwirkung. Sie bewegen sich zwischen 35,1 und 49,2. Der Typhusstamm B zeigt sich sowohl nach 6 als auch nach 24stündiger Einwirkungszeit als am wenigsten resistent gegen die Colibazillen.

Bei den Nißle-Typen kam der Unterschied in der von Nißle angegebenen Form insofern zum Ausdruck, als Typ I

sich als sehr guter Antagonist bewährte und bei 24stündiger Einwirkung sogar eine absolute Verdrängung der Typhuskeime zeigte, während die drei übrigen Typen keine wesentlichen Unterschiede in der Hemmung aufwiesen.

Den empfindlichsten Indikator für die Feststellung des antagonistischen Effektes gibt die Versuchsanordnung von Etinger-Tulczynska, die die Einsaatmengen abstufte und verschiedene Keimzahlen auf einander einwirken ließ. Stamm 44 und Stamm 6, die sich in den vorhergehenden Versuchen als guter bzw. als schlechter Antagonist gezeigt hatten, wurden nach der Versuchsordnung von Etinger-Tulczynska geprüft. Die Ergebnisse sind in der Tabelle V niedergelegt:

Tabelle 5

Coli-Typhusbazilleneinwirkung in fallenden Verdünnungsreihen nach 24 stündiger Wirksamkeit.

Coliver-dünnung	Typhus-Verdünnung							
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}	
	Stamm 6							
10^{-1}	+++ C	+ T	+++ C	+ T	+++ C	+ T	+++ C	
10^{-2}	++ C	++ T	+++ C	++ T	+++ C	+ T	+++ C	± T
10^{-3}	+ C	++ T	+ C	++ T	++ C	+ T	++ C	+ T
10^{-4}		+++ T	+ C	++ T	+ C	+ T	++ C	+ T
	Stamm 44							
10^{-1}	++++ C	++ T	++++ C	+ T	++++ C		++++ C	
10^{-2}	+++ C	++ T	+++ C	++ T	+++ C	+ T	+++ C	± T
10^{-3}	++ C	++ T	++ C	++ T	++ C	+ T	++ C	± T
10^{-4}	++ C	++ T	++ C	++ T	++ C	+ T	++ C	± T

C = Coliwachstum, T = Typhuswachstum, ++++ = über 500 Keime, +++ = über 300 Keime, ++ = über 100 Keime, + = über 20 Keime, ± = weniger als 20 Keime.

Wie aus der Tabelle V zu ersehen ist, zeigen die zur Anwendung gelangten Stämme 44 und 6 eine klare Verschiedenheit in ihrer antagonistischen Wirkung. Selbstverständlich ist die Abnahme der Typhusbazillen umso größer, je kleiner ihre Einsaatmenge im Verhältnis zum Colibazillus ist. Bei dem Stamm 44 verschwinden Typhuskeime vollständig, wenn ein Verhältnis von Coli 10^{-1} zu Typhus 10^{-3} gewählt wird. Bei einer Einsaat von Coli 10^{-4} und Typhus 10^{-1}, also bei starkem Überwiegen der Typhusbazillen, behauptet sich jetzt der Colibazillus und zeigt noch starkes Wachstum. Eine Beeinträchtigung des Typhusbazillenwachstums ist nicht zu erkennen.

Anders liegen die Verhältnisse bei dem Colistamm 6. Diesem gelingt es nicht die Typhusaussaat 10^{-3} bei einer Coli-Einsaat von 10^{-1} völlig zu unterdrücken. Eine absolute Hemmung der Typhusbazillen kommt erst bei einem Verhältnis von Coli 10^{-1} zu Typhus 10^{-4} zur Darstellung. Dieser Vorgang ist im Gegensatz zu den Versuchen von Colistamm 44 reversibel. Bei einer Mischung von Coli 10^{-4} mit Typhus 10^{-1} kommt es zur vollständigen Unterdrückung der Colibazillen. Auch aus anderen Einsaatmengen läßt sich erkennen, daß der Colistamm 6 antagonistisch schwächer wirkt als der Stamm 44. Aus diesem verschiedenen Verhalten der beiden Colistämme ergibt sich, daß ein spezifischer Faktor die Vorgänge beeinflussen muß, der dem Colistamm 44 in stärkerem Maße zukommt als dem Colistamm 6.

Die Versuche haben zunächst die bereits von zahlreichen Untersuchern erhobene Feststellung bekräftigt, daß der Colibazillus eine ausgesprochene antagonistische Wirkung auf Typhusbazillen und Staphylokokken ausübt. Diese Eigenschaft ist jedoch nicht bei allen Colistämmen in gleicher Stärke vorhanden.

Der Gesamteindruck der Zahlen der Tabellen III und IV läßt erkennen, daß das Optimum der Einwirkung der Colibazillen gegenüber Staphylokokken bei 6 Stunden, gegenüber Typhusbazillen bei 24 Stunden liegt. Ferner erwiesen sich die

Staphylokokken gegenüber der antagonistischen Einwirkung der Colibazillen resistenter als die Typhusbazillen. Es hat sich weiterhin gezeigt, daß keine Abhängigkeit der antagonistischen Wirkung von dem biochemischen Verhalten der Colistämme insbesondere ihrem Spaltungsvermögen gegenüber Zuckerarten besteht. Auch auf Endo weiß wachsende Colistämme, die vielfach als Paracoli bezeichnet und als minderwertige Rassen angesprochen werden, können einen guten Antagonismus aufweisen. Beweglichkeit und Hämolyse können auf Grund der Versuche ebenfalls nicht als wirksames Prinzip des Antagonismus angesprochen werden. Somit haben wir noch keinen Anhaltspunkt, um aus dem kulturellen Verhalten der Colistämme die antagonistische Leistung zu bestimmen.

Die Typeneinteilung von Nissle genügt auch nicht allen Anforderungen. Es konnte festgestellt werden, daß es im Verlaufe mehrerer Kulturpassagen immer schwieriger wird, die Typenunterschiede voneinander abzugrenzen. Bei den Versuchen bestätigte es sich, daß Typ I in seiner antagonistischen Wirkung gegenüber Typhusbazillen die anderen Typen überragt. Ein gradueller Unterschied zwischen den Typen II, III und IV ließ sich nicht erkennen. In der Hemmung gegenüber Staphylokokken bestand keine wesentliche Differenz bei den verschiedenen Nissletypen. Wenn auch die Untersuchung je eines Vertreters der vier Typen nicht ausreicht, um eine endgültige Stellung einnehmen zu können, so kam doch die Schwierigkeit der Abgrenzung der einzelnen Typen klar zum Ausdruck. Ebenfalls ist die Typeneinteilung nicht umfassend, da die auf Endoplatten weiß wachsenden Colibazillen unberücksichtigt bleiben.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß vorerst noch keine Möglichkeit besteht, das antagonistische Verhalten der Colibazillen aus bestimmten kulturellen Eigenschaften eindeutig zu erkennen.

Literaturverzeichnis.

Bail	Z. Imm. forsch. 6. 1. 1929.
Bienstock	Zbl. Bakt. O. 29. P. 534.
Emmerich, di Mattei	Fortschr. Med. 1887.
Emmerich, Löw	Z. Hyg. 31. 1 (1899).
Etinger-Tulczynska	Z. Hyg. 113, P. 762. 1932.
Giovanardi	Zbl. Bakt. R. 99. P. 281.
Goldmann	Z. f. Bakt. O. 136. P. 345. 1936.
Gundel, Habs	Zbl. Bakt. O. 104. P. 463.
Gundel-Himstedt	M. M. W. 1925, II. P. 1674.
Gundel, Kliewe	Zbl. Bakt. O. 124. P. 519.
Gundel-Meyer	Zbl. Bakt. O. 129. P. 305. 1933.
Gundel, Okura	Z. Hyg. 114, P. 678.
Hashimoto	Z. f. Bakt. O. 103. P. 1. 1927.
Koch, Krämer	Z, f. Bakt. O. 123. P. 308,
Makowsky	Z. f. Bakt. O. 138. 1937.
Neufeld, Kuhn	Z. Hyg. 116, P. 95. 1935.
Nißle	Hdb. d. path. Mikroorg. VI 1.
Nißle	Deutsch. med. Wochenschr. 1916. P. 42.
Sanfelice	Arch. f. Hyg. 110. 348—354. 1933.
Schilling, Califano	Zbl. Bakt. O. 119. P. 244.
Weiland	Z: f. Bakt. O. 136. P. 451. 1936.

Lebenslauf.

Ich, Karl Nitsche, wurde am 24. August 1911 in Bochum als Sohn des Knappschaftsbeamten Richard Nitsche und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Klebold, geboren.

In meiner Vaterstadt besuchte ich die Vorschule und dann das Gymnasium, welches ich Ostern 1932 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Ich studierte Medizin in Münster, Erlangen und Bonn. Im Februar 1935 bestand ich in Münster die ärztliche Vorprüfung und im W.-H. 1937/38 das ärztliche Staatsexamen in Bonn.